

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

FEBRE Q EM BOVINOS

Maria Adriana Costeira de Freitas

Orientador(es)

Dra. Carla Maria Proença Noia de Mendonça

Co-Orientador(es)

Dr. José António Ferreira das Neves

Porto 2013

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

FEBRE Q EM BOVINOS

Maria Adriana Costeira de Freitas

Orientador(es)

Dra. Carla Maria Proença Noia de Mendonça

Co-Orientador(es)

Dr. José António Ferreira das Neves

Porto 2013

Agradecimentos

Através da realização do presente relatório, de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, concluí uma etapa muito importante do meu ciclo de vida, a finalização do curso de medicina veterinária. Este trabalho deve-se não apenas ao meu esforço, mas também à preciosa colaboração de vários intervenientes, aos quais gostaria de expressar o meu profundo agradecimento, em particular:

Ao grupo docente pertencente ao ICBAS, pela disponibilidade e apoio ao longo destes 6 anos de estudo;

À Professora Doutora Carla Mendonça, pela orientação, incentivo, disponibilidade e contributo em termos de saber científico no decorrer da realização do presente relatório;

Ao Doutor José das Neves, agradeço pela sua paciência, compreensão, conselhos e apoio, bem como pelos conhecimentos que me foi inculcando ao longo do estágio, onde pude obter os dados pertinentes para a realização do presente trabalho;

Aos meus pais um muito obrigado, por possibilitar a realização deste meu velho sonho, pela sua disponibilidade e apoio incondicional;

Ao Gonçalo meu confidente, obrigado pelo apoio imprescindível na ultrapassagem de obstáculos que foram surgindo ao longo da execução deste trabalho;

Aos meus amigos do ciclo de estudo, Vanessa, Luís, Inês, Ana Teresa, Patrícia, Marlene o meu profundo agradecimento pela força, motivação e ajuda nos momentos mais complicados de estudo;

Finalizando, um sincero obrigado a todas as pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

“A dúvida é o princípio da sabedoria.”

Aristóteles

Abreviaturas

Ac- anticorpo

Amb. - Ambiente

BVD - Bovine Viral Diarrhea

C.burnetii – *Coxiella Burnetii*

Cm² _centímetro cúbico

CR3 - Complement receptor 3

DNA-Ácido Desoxirribonucleico

DGV-Direção Geral de Veterinária

DGS-Direção Geral de Saúde

ELISA- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

IFA – Imunofluorescência Indireta

Km- Quilómetros

LNIV-Laboratório Nacional de Investigação Veterinária

LCV – Large Cell Variant

LPS - lipopolissacárido

Ms- muscular

OIE-Office International des Epizooties

PCR-Polymerase Chain Reaction

PV- peso vivo

sc- subcutâneo

SCV – Small Cell Variant

SDC- Small Dense Cell

Índice

Agradecimentos.....	iii
Abreviaturas.....	iv
Índice de Tabelas.....	vii
Índice de Figuras.....	viii
Abstract.....	1
Resumo.....	2
Introdução.....	3
1 Revisão Bibliográfica.....	4
1.1 Taxonomia da <i>Coxiella Burnetii</i>	5
1.2 Ciclo de Vida.....	5
2 Epidemiologia , Modo de transmissão e Reservatórios.....	7
2.1 Prevalência em Portugal.....	10
3 Sinais Clínicos.....	11
4 Diagnósticos diferenciais.....	12
5 Técnicas de diagnóstico.....	13
5.1 Métodos de diagnóstico direto.....	13
5.1.1 Coloração bacteriana.....	13
5.1.2 PCR.....	14
5.1.3 Isolamento de estirpes.....	15
5.1.4 Tipificação Bacteriana.....	16
5.2 Métodos de diagnóstico Indireto.....	16
5.2.1 ELISA, FC e IFA.....	16
6 Medidas de prevenção e controlo.....	17
6.1 Medidas Biossegurança.....	17

6.2	Desinfetantes	18
6.3	Profilaxia Médica	18
6.3.1	Antibióticos	18
6.3.2	Vacinação	19
7	Febre Q nos humanos	21
8	Conclusão	23
9	Bibliografia	25

Índice de Tabelas

Tabela I Período de eliminação de <i>C.burnetii</i> nas diferentes espécies	10
Tabela II Casos de febre Q reportados a DGV (DGV,2004)	10
Tabela III Casos de febre Q declarados à OIE (DGV,2004).....	11
Tabela IV Risco de bovinos não- gestantes num ambiente. infetado.....	20
Tabela V Dados Epidemiológicos de 2002 a 2008 da DGS	22

Índice de Figuras

Figura 1 <i>C.burnetii</i>	5
Figura 2 Modelo representativo do Ciclo <i>C.burnetii</i> numa célula eucariótica.....	7
Figura 3 Esfregaço com coloração Giemenez	13
Figura 4 PCR para <i>C.burnetii</i>	14

Abstract

This report is the result of the work developed during the traineeship, in the area of Clinical Surgery and Livestock Species, with particular emphasis on dairy cattle. As the topic developed in this report is Fever Q I chose this subject because it is a zoonosis of worldwide distribution caused by the bacterium *Coxiella burnetii*, which disease registries are rare in Portugal and also because this is an underdiagnosed disease in the country.

Q fever is a disease, part of List B, which is a notifiable disease according to the OIE Terrestrial Animal Health Code, but it is not part of the notifiable diseases in Portugal. In what concerns bovines the disease can be subclinical and if clinical it may cause reproductive problems such as infertility, metritis, placentitis and abortion, in the last third of gestation. It is important to stress that it is in the placenta and in the fluids, at the moment of delivery, that bacterium *Coxiella burnetii* is found in higher concentration.

Transmission to humans and other animals may occur through milk, urine and excrements of infected animals. For this reason, labour is considered a crucial time to implement prevention and control measures. In humans, this bacterium is responsible for fever, gastrointestinal and respiratory changes and it is transmitted by the inhalation or ingestion of spores. Risk groups include livestock producers, of big and small ruminants, veterinary surgeons, slaughterhouse operators and laboratory technicians.

There is no effective treatment against this disease in animals. The treatment is based on long-term administration of tetracycline, which can become impractical in the raising of dairy cattle, so the most important is the prevention of the pathology.

The Prevention and Control has to do with primary prevention of animals that have not been in contact with the bacteria mentioned above, through vaccination, and the vaccine commercialized in Portugal is COXEVAC ®, and by the identification of carrier animals, in order to slaughter them. It is also important the application of biosecurity measures, especially during labour.

Keywords: *Coxiella burnetii*, zoonosis, Q Fever, Bovine, Coxevac®

Resumo

O presente relatório é resultado do trabalho desenvolvido ao longo do estágio curricular, efetuado na área de Clínica e Cirurgia de Espécies Pecuárias, nomeadamente em bovinos de leite, tendo optado pelo tema: Febre Q. Temática que me despertou interesse por se tratar de uma zoonose de distribuição mundial causada pela bactéria de nome *Coxiella burnetii*, sendo raros os registos da doença em Portugal e também por se tratar de uma patologia infecciosa subdiagnosticada.

A febre Q, é uma patologia que se insere na Lista B, sendo esta doença de declaração obrigatória segundo a OIE Terrestrial Animal Health Code, mas não faz parte das doenças de declaração obrigatória em Portugal segundo a lista comunitária e nacional. (DGV,2012) Em bovinos, a doença pode ser subclínica e a sua exibição clínica pode provocar problemas reprodutivos, como infertilidade, metrite, placentite e aborto no último terço da gestação. Salientando, que é na placenta e nos líquidos decorrentes no período de parto, que a bactéria *Coxiella burnetii* se encontra em maior concentração. A transmissão ao homem pode ocorrer através de aerossóis derivados da urina, fezes e de todos os produtos decorrentes do parto, assim como da ingestão de leite não pasteurizado dos animais infetados. Sendo assim, é considerado o parto um momento crucial para se implementar medidas de controlo e prevenção. Nos humanos esta bactéria é responsável por febre, alterações gastrointestinais e respiratórias, sendo transmitida através da inalação ou ingestão de esporos. Os grupos de risco incluem os produtores pecuários de grandes e pequenos ruminantes, médicos veterinários, operadores de matadouros e técnicos de laboratório.

Não existe um tratamento efetivo contra esta patologia nos animais. O tratamento baseia-se na administração prolongada de tetraciclinas, o que se pode tornar inviável na produção bovinos leiteiros, pelo que o mais importante é a prevenção da patologia em efetivos.

Como prevenção primária nos animais, que ainda não tenham tido contacto com a bactéria supracitada, é comercializada em Portugal a vacina Coxevac®, e pela identificação dos animais portadores para fazer o seu refugio, sendo também importante a aplicação de medidas de biossegurança especialmente na altura do parto.

Palavras chave: *Coxiella burnetii*, zoonose, Febre Q, Bovinos, Coxevac ®

Introdução

O presente relatório foi desenvolvido no âmbito da unidade curricular “estágio”, inserida no Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, no ano letivo 2012/2013. Tendo decorrido na Sociedade Castro Rodrigues e Ferreira Neves Lda, com sede em São Silvestre, abrangendo os concelhos da Figueira da Foz, Montemor-o-Velho, Pombal e Cantanhede, no período compreendido entre 8 de Outubro de 2012 e 25 de Janeiro de 2013, tendo como duração total de 16 semanas sob a orientação do Médico Veterinário Dr. José das Neves.

Ao longo do estágio, foi-me permitido assistir e participar nas atividades médico veterinárias de Clínica e Cirurgia de Espécies Pecuárias em regime de ambulatório, incidindo sobretudo nas áreas de Clínica, Cirurgia, Maneio Reprodutivo, Medicina de Produção e Medicina Preventiva em bovinos leiteiros.

Durante o estágio supracitado, tive diversas oportunidades de contactar com variados casos clínicos, exemplificados em anexo (anexo I), e em diferentes espécies, tais como, caprinos, ovinos, suínos e bovinos, sendo esta última espécie animal, a que mais me suscita interesse. De todas as patologias que contactei a que mais me despertou atenção foi um caso de febre Q, que surgiu numa pequena exploração familiar, com um efetivo de 40 bovinos leiteiros em regime de estabulação fixa, da raça Holstein Frísia, com produção média leiteira de 25 litros por animal. A exploração é constituída por três pavilhões separados, com cerca de 15-20 metros de comprimento por 5-6 metros de largura, em dois dos pavilhões têm cerca de 15 vacas adultas em cada um, no outro tem cerca de 10 vitelos, sendo o chão destes pavilhões ripado com fossa, sempre em boas condições de higiene, e o arejamento efetuado por pequenas janelas existentes nas paredes laterais, sendo estas insuficientes. Não há parques separados para vacas secas e em lactação, estas encontra-se sempre no mesmo local independentemente do seu estado produtivo, assim como o maneio nutricional é igual, sendo a alimentação fornecida a base de silagem de milho ou erva feita pelos mesmos, ração e palha oriunda de Espanha.

Em 2003 surgiu na exploração um surto de BVD em bovinos adultos, que levou a grandes quebras no efetivo, sendo desde esta data, efetuado o protocolo vacinal para a BVD, para além deste é também feito o protocolo vacinal para mastites com a STARTVAC®. As principais queixas, mencionadas pelo proprietário, foi dois casos aborto no último terço da gestação com cerca de quatro dias de intervalo. Também tive oportunidade de constatar, que durante o período em que decorreu o meu estágio os casos clínicos eram maioritariamente incidentes na espécie bovina, como se pode confirmar pelo gráfico em anexo (anexo II).

O presente trabalho divide-se em oito partes: a primeira refere-se, de forma sucinta, à revisão bibliográfica sobre o tema em estudo para a qual se recorreu à pesquisa, referenciando a febre Q, a bactéria *Coxiella Burnetii* e seu ciclo de multiplicação; a segunda, aborda uma pesquisa bibliográfica sobre a epidemiologia, modo de transmissão e reservatórios da bactéria em estudo, expondo o meu caso clínico; a terceira, aborda os sinais clínicos apresentados pela espécie afetada; quarta, aborda as técnicas diagnósticas necessárias para a detecção do agente patogénico; quinta, aborda os diagnósticos diferenciais; sexta, aborda as medidas de controlo e prevenção, referindo a vacinação; sétima, aborda a febre Q nos humanos, seus sintomas, tratamentos e epidemiologia e por fim a conclusão.

1 Revisão Bibliográfica

Em 1937, na cidade Queensland, Austrália, foi pela primeira vez identificada a bactéria *Coxiella burnetii* (Derrick,1937). Aquando do aparecimento de uma doença febril que afetava os trabalhadores do matadouro público de Cannon Hill, em Brisbane. Edward Holbrook Derrick foi convidado a investigar esse incidente, tendo descoberto a bactéria acima mencionada. Desde então tem sido identificada por todo o mundo, com exceção na Nova Zelândia.(Santos A.,et al, 2007)

Após 2 anos de sua descoberta, o agente implicado na Febre Q viria a ser isolado e identificado como uma rickettsia, com base em algumas características morfológicas e bioquímicas (Cox et al,1939). Na literatura da época, encontram-se alusões a *Rickettsia burnetii* ou *R. diaporica*. A intensa investigação gerada em torno deste agente colocou, no entanto, em evidência algumas particularidades biológicas díspares das outras rickettsias, determinando a sua reclassificação no novo género *Coxiella*, com a designação de *Coxiella burnetii*, em homenagem a Cox e Burnet, investigadores responsáveis pelo seu isolamento. (Philip CB.,1948)

A Febre Q (deriva do Inglês “query”- interrogação, terminologia escolhida devido à causa da febre ter sido desconhecida durante algum tempo) é uma zoonose aguda, causada pela *Coxiella burnetii*, uma bactéria Gram negativa estritamente intracelular. Tratando-se de uma zoonose, é uma doença de declaração obrigatória da Lista B da OIE.

A *C.burnetii*, infecta tanto animais silvestres como domésticos, sendo a transmissão efetuada na maioria dos casos por ixodídeos. No caso do homem a transmissão ocorre fundamentalmente por inalação e ingestão de aerossóis contaminados por bactérias existentes nas fezes, urina ou leite não pasteurizado de animais infetados.

A doença é propensa a aparecer de forma epidémica em trabalhadores de matadouros e esporadicamente em trabalhadores de pecuárias e veterinários. (Prescott, et al 2004)

O diagnóstico pode ser obtido por isolamento da bactéria a partir de fetos abortados e dos fluidos de partos de animais infetados ou através de testes serológicos a partir de amostras sanguíneas de estes animais, de acordo com os padrões que se encontram no Manual de Testes de Diagnóstico e Vacinas para Animais Terrestres da OIE.

1.1 Taxonomia da *Coxiella Burnetii*

O genoma completo da estirpe Nine Mile da bactéria *C.burnetii* foi sequenciado em 2003 (Seshadri et al,2003), o que permitiu classificar o género *coxiella* na ordem *Legionellas*, família *coxiellaceae* (Seshadri et al,2003), no grupo gama das *Proteobaterias* (Weisburg et al, 1989; Stein et al., 1993), assim como a ordem *Francisella e Rickettsiella*.

Atualmente, a classificação da bactéria baseia-se nas características microbianas, como a composição dos LPS da parede e vias metabólicas, bem como, características genéticas, nomeadamente na composição da sequência 16S do RNA, o que lhe confere uma homologia com o género *Legionella*.

A *C.burnetii* difere da *Rickettsia* pela sua capacidade de sobreviver fora das células hospedeiras formando um corpo análogo a uma endóspora resistente.

A *C. burnetii* é uma bactéria intracelular obrigatória, com a parede celular semelhante à das bactérias Gram negativas, não capsulada, imóvel e muito pleomórfica, variando entre o redondo e o bacilar, estando as suas dimensões entre 0,4-1 µm de comprimento e 0,2-0,4 µm de largura. (Prescott, et al 2004)

1.2 Ciclo de Vida

O ciclo de vida da *C. burnetii* é complexo, caracteriza-se pela presença de duas formas morfológicas: “small cell variant”(SCV) e a “large cell variant” (LCV). Sendo que a SCV corresponde a bactéria extracelular, é metabolicamente pouco ativa, muito resistente no meio exterior e fácil de aerolisar. (Janes.E,1999) No entanto a sua inativação é possível com a utilização de éter, clorofórmio, raios gama, sendo também destruída a temperaturas de 130°C

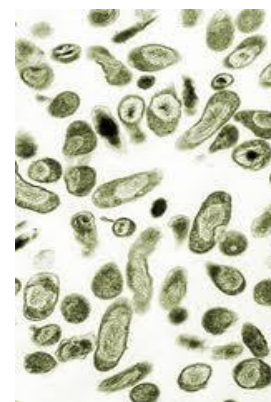


Figura 1. *C.burnetii*
(Sánchez,2009)

durante uma hora. *C. burnetii* é também suscetível a alguns desinfetantes, como hipoclorito de sódio, fenol, etanol, glutaraldeído e formaldeído. (Santos A., et al, 2007)

A variação da fase antigénica é um fenómeno exclusivo e peculiar da *C. burnetii*, que é detetável serologicamente e que se deve fundamentalmente a uma modificação no lipossacarídeo de membrana (LPS), sendo este fenómeno condicionado pelo hospedeiro, no entanto implica uma grande adaptabilidade da bactéria. (Blanco et al, 2004)

Do ponto de vista energético do hospedeiro, a mudança da fase I para a fase II, supõe a síntese de um LPS menos complexo, havendo menor gasto de energia, orientando o parasita a sua própria proliferação no meio biologicamente favorável. (Blanco et al, 2004)

A fase I é a fase natural, presente no animal infetado incluindo as carraças. A fase II é menos virulenta e contagiosa, obtém-se só em laboratório através de culturas celulares ou ovos embrionados.

In vivo, as bactérias em fase II são sensíveis a ação do complemento e são rapidamente eliminadas pelos macrófagos, enquanto que as bactérias em fase I sobrevivem a ação bactericida dos macrófagos. Nos mamíferos que tenham sido infetados, a resposta dos anticorpos é mais precoce e mais elevada, caso os antígenos sejam constituídos por bactérias na fase II. Por outro lado, o poder protetor dos anticorpos anti-fase I é claramente maior que o dos anticorpos anti-fase II. (García-Perez et al, 2007)

O ciclo de multiplicação da *C. burnetii* na célula eucariótica inicia-se com a fixação e penetração das SCV, que recorre a diferentes recetores segundo a fase antigénica. Estas diferenças de comportamento entre fase I e fase II, permitem explicar que só as bactérias em fase I são infecciosas. A *C. burnetii* em fase II, fixa-se ao recetor CR3 (recetor para o fragmento iC3b do sistema complemento). A bactéria penetra facilmente na célula mas é rapidamente destruída pelo sistema fagolisossoma. (Arricau-Bouvery, et al 2005)

A mudança da forma infetante da bactéria (fase I) bloqueia o recetor CR3 e utiliza recetores relacionados com as integrinas, e complexo LRI (leukocyte response integrin, $\alpha\text{v}\beta3$) - IAP (integrin-associated proteins). A bactéria em fase I induzirá a reorganização dos filamentos de actina e a formação de pseudópodes para penetrar nos macrófagos por fagocitose. Por esta via, os CR3 localizam-se fora dos pseudópodes enquanto as integrinas $\alpha\text{v}\beta3$ estão presentes neles. Assim a bactéria é debilmente introduzida na célula, mas é capaz de sobreviver e multiplicar-se no seu interior. (Arricau-Bouvery, et al 2005)

Após penetrar a célula, as SCV localizam-se nos fagossomas, que acidificam. Produzem fatores capazes de bloquear a fusão do fagossoma com lisossoma e, ativadas pelo meio ácido do fagossoma pH (4,7-5,2), transformam-se em LCV. (Arricau-Bouvery, et al 2005)

De seguida, nos macrófagos, o fagossoma funde-se com o lisossoma para formar um fagolisossoma, enquanto as bactérias virulentas inibem esta fusão nos monócitos. Há fusão dos diferentes fagolisossomas, num único vacúolo devido a síntese de proteínas de *C.burnetii*. No final do ciclo, as LCV condensam-se em SCV ou iniciam a esporogénese que dá lugar a formação de SDC. (Arricau-Bouvery, et al 2005)

A bactéria *C.burnetii* adaptou-se para sobreviver nos fagolisossomas das células eucarióticas, possuindo um metabolismo ótimo em meio ácido. (García-Perez A.L., et al, 2007)

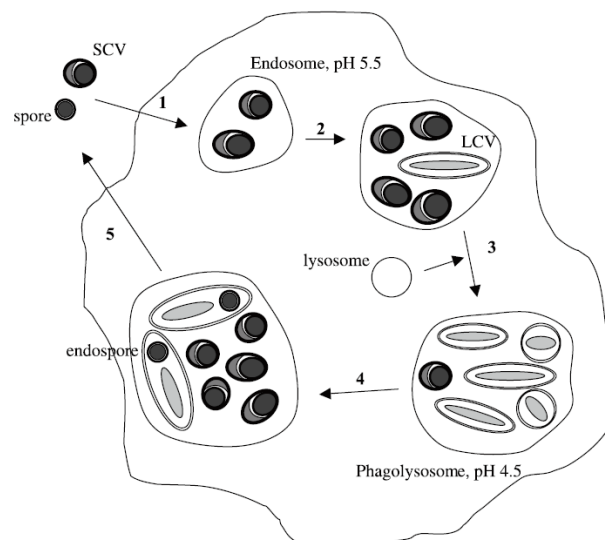


Figura 2. Modelo representativo do Ciclo *C.burnetii* numa célula eucariótica. (1) Entrada do esporo ou SCV na célula eucariótica e acidificação do endossoma e fagossoma. (2) Multiplicação da SVC por divisão binária e diferenciação em LCV. (3) Fusão do endossoma com o lisossoma, acidificação da fagolisossoma (pH 4,5). (4) Multiplicação do LCV para SCV e desenvolvimento do endósporo em LCV. (5) Libertação do endósporo e SCV para o exterior da célula. (Arricau-Bouvery,2004)

2 Epidemiologia , Modo de transmissão e Reservatórios

A Febre Q é uma zoonose distribuída mundialmente, como reservatórios naturais da doença podem-se incluir uma grande variedade de carraças, de animais domésticos e silvestres, tais como, ruminantes, equídeos, ursos, raposas, veados, gatos, cães, ouriços, coelhos, leões, esquilos e outros roedores, pombos e diversas espécies de aves domésticas e silvestres. Os ovinos,

caprinos e bovinos, são as principais fontes de infecção da bactéria para o ser humano e animais domésticos. No caso dos animais silvestres, os lagomorfos, parecem ser os que demonstram maior afinidade. (Blanco G., et al,2004)

Entre os ectoparasitas, existem mais de 40 espécies de carrças que estão naturalmente infetadas, como *Amblyomma sp.*, *Dermacenter sp.*, *Haemophysalis sp.*, *Myalomma sp.*, *Ixodes sp.*, *Ornithodoru sp.*, *Rhipicephalu sp.*, *Otobius*, entre outras. As carrças *Ixodes* representam, possivelmente, o reservatório natural mais genuíno e evolutivamente o mais antigo de *C. burnetii* (Blanco G., et al,2004). O microrganismo está adaptado para viver no interior das carrças e a sua virulência vai aumentando quanto mais passagens ocorrerem por estes ectoparasitas. (Blanco G., et al,2004)

As carrças ocupam um lugar central para manter a viabilidade deste microrganismo na natureza, transmitindo-o entre os animais silvestres e ocasionalmente, aos ruminantes, sendo que muitos autores as consideram pouco significativas na sua transmissão ao homem. (Blanco G., et al,2004)

Uma carrça que contenha *C. burnetii* pode disseminar a infecção através das suas fezes dessecadas. Uma grama de fezes dessecadas pode conter até um bilião de bactérias viáveis, podendo transmitir a infecção entre os animais silvestres e os domésticos, quer por inalação ou por penetração através de soluções de descontinuidade na pele ou por erosões cutâneas produzidas pelo coçar. (Blanco G., et al,2004).

No caso clínico que tive oportunidade de acompanhar ao longo do meu estágio, tentou-se, empiricamente, averiguar a origem da infecção. Após algumas questões ao proprietário, pode-se constatar que não tinham entrado novos animais na exploração, a única modificação dos hábitos diários era a entrada, na exploração, de palha oriunda de Espanha onde a prevalência da doença é relativamente elevada. Estudos de 1996 apontam para uma seroprevalência no gado bovino na comunidade de Madrid de 66,9% (Pascuai-Velasco,1996). No entanto, estudos mais recentes, efetuados no País Vasco (anexo III), sobre a distribuição de *C.burnetii* nos ruminantes em extensivo demonstraram uma sero-prevalência em explorações ovinas de 73.9% e de 42.9% em bovinos de carne e caprinos de 45.5%. Em 48.2% de explorações de bovinos de leite existem pelo menos um animal seropositivo, sendo a sero-prevalência média de 6,5%. (Ruiz-Fons e Cols., 2010)

O conhecimento destes dados, leva-nos ou pode levar-nos a deduzir que no nosso caso clínico, poderá ter sido a palha importada de Espanha, uma importante fonte de disseminação da patologia, uma vez que esta é proveniente de um país em que os animais se encontram em

extensivo e com seroprevalências elevadas da bactéria, originando o aparecimento de esporos nos solos e contaminando a palha ou pela presença de carraças associada à palha, na medida em que não houve entrada de novos animais na exploração

Outro possível reservatório que captou a nossa atenção, foram os pombos, estes tinham ninhos feitos pelo proprietário localizados por cima do efetivo. Também não se pode excluir a via inalatória, uma vez que há explorações relativamente perto e é relativamente comum na zona importar palha oriunda de Espanha.

Segundo Blanco (2004), considera-se que a febre Q possui dois ciclos, um silvestre e um doméstico, com longa existência, sendo que o ciclo silvestre é considerado o reservatório ancestral, natural e inexpugnável da infeção, enquanto que o ciclo doméstico constitui a base importante da epidemiologia e doença no homem. Ambos os ciclos que circulam paralelamente, contribuem para que na atualidade a bactéria seja considerada re-emergente (Blanco et al,2004).

Durante a fase aguda os animais infetados eliminam as bactérias através das fezes, urina, secreções genitais, leite e exsudados nasais, infetando outros animais, pela via inalatória. Entretanto também se detetou *C. burnetii* em sémen de touros seropositivos, o que sugere que pode ocorrer a transmissão venérea nos bovinos. (Blanco G., et al,2004).

Do ponto epidemiológico, é importante destacar que a gestação parece ser um momento crítico para a reativação da infeção, levando á eliminação de bactérias através do feto, placenta e fluidos amnióticos, quer o parto seja eutócico ou ocorrendo aborto. É nas últimas semanas de gestação que a proliferação da bactéria aumenta, alcançando elevadas concentrações em certos órgãos e tecidos (útero, placenta, líquidos fetais, abortos, glândula mamária). Quando ocorre o parto ou aborto, as bactérias são dispersas no ambiente, podendo infetar outros animais e o homem. As bactérias, permanecem presentes na atmosfera como aerossóis até duas semanas depois do parto, embora a excreção também possa ser intermitente e prolongar-se durante meses. A difusão aérea no momento do aborto ou parto, tem uma função determinante, na contaminação de outros animais e entre os efetivos, com a agravante de que a contaminação pode prolongar-se no tempo, dado que a presente bactéria é resistente ao calor e à dessecação, podendo sobreviver 150 dias ao sol. (Blanco G., et al,2004)

A principal fonte de infeção animal-humano da bactéria *C. burnetii* existente no meio ambiente é a via inalatória (Porter, et al,2010). Sendo a infecciosidade desta bactéria extremamente elevada, dado que um único esporo inalado é o suficiente para desencadear a doença.

A placenta de um animal infetado, pode conter mais de 1 milhão de microrganismos viáveis por grama. Quando as fêmeas, recém-paridas, ingerem placenta e outros produtos do parto, as bactérias sobrevivem à digestão e são posteriormente expulsas através das fezes, permitindo que estas se propaguem no ambiente. (Blanco et al,2004) Uma placenta infetada abandonada no campo, estrume ou chorume espalhados na terra, podem infetar rebanhos situados até vários km de distância do ponto de origem, dado que espalhar estrume ou chorume pelos campos ainda é uma prática muito comum em países como Portugal e Espanha.

Em 2009, realizaram-se análises comparativas da excreção da bactéria *C. burnetii* nas fezes e no leite das espécies ovinos, caprinos e bovinos, das quais se constatou que os bovinos são a principal fonte de disseminação, pois estes excretam a respetiva bactéria, durante 32 meses através do seu leite, como se pode verificar na tabela infracitada. (Pérez-García,2009)

Tabela I Período de eliminação de *C.burnetii* nas diferentes espécies (adaptado Pérez-García,2009)

Espécie	Período de eliminação de <i>C.burnetii</i>	
	Fezes	Leite
Bovinos	-----	32 meses
Ovinos	5 meses	4 meses
Caprinos	20 dias	4 meses

2.1 Prevalência em Portugal

Os dados sobre a febre Q, disponibilizados pela DGV, em bovinos são referentes apenas ao período compreendido entre 1998 e 2002 (DGV,2004), apresentados na seguinte tabela:

Tabela II Casos de febre Q reportados a DGV (DGV,2004)

ANO	Nº bovinos positivos
1998	53
1999	3
2000	11
2001	24
2002	34

No entanto, à posteriori, a DGV reportou à OIE o período compreendido entre 1998 e 2004, não referindo os casos existentes por área geográfica, como descrito na seguinte tabela:

Tabela III Casos de febre Q declarados à OIE (DGV,2004)

Espécie	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Bovino	53	3	11	24	34	10	17

Os dados disponíveis sobre a febre Q, são antigos, pois quando contactei com a DGV foi-me dito que havia poucos casos reportados, e que os que tinham eram apenas os dados cedidos pelo LNIV, por isso não tenho no presente relatório dados mais recentes pela impossibilidade burocrática mais uma vez de os obter em tempo útil pra os expor aqui.

Tudo isto suscita-me alguma confusão pelo facto, de a doença não ser de declaração obrigatória na lista comunitária, nem na lista da UE, mas fazer parte da lista B da OIE, assim como esta faz parte das doenças de declaração obrigatória nos humanos.

Isto só me leva a pensar que os dados sobre a febre Q reportados pela DGV a OIE são dados irreais, porque estes só reportam os resultados de análises feitas no LNIV, excluindo todos os casos que aparecem em laboratórios particulares de veterinária

3 Sinais Clínicos

É considerado sinal clínico, qualquer manifestação de patologia que possa ser verificada, objetivamente, por um observador. (Manuila L. et al, 2000)

A patologia Febre Q está associada a problemas reprodutivos como: infertilidade, metrite, mastite e placentite em caso de aborto (Robert J. Bildelf et al,2000; To et al.,1995; Vaidya et al.,2008). Estando também associada a abortos esporádicos ou surtos de aborto, morte, ou nascimento de vitelos prematuros que recuperam sem outras complicações (O.I.E in May 2010).

Existe grande incidência da bactéria *C. burnetii* em bovinos de leite com problemas reprodutivos, tendo esta espécie um papel determinante na disseminação da bactéria para o meio ambiente e na sua subsistência. (Pérez-Garcia,2009)

De facto, a ocorrência de aborto no último terço da gestação, foi o sinal clínico descrito pelo proprietário da exploração visitada e acompanhada durante o meu estágio, o que nos levou a suspeitar de diversas patologias, tendo sido à posteriori detetado a presença de febre Q.

4 Diagnósticos diferenciais

Em situações de presença do sinal clínico- aborto, no último terço de gestação, são questionados diversos possíveis diagnósticos diferenciais, tais como: BVD, *Coxiella*, *Chlamydophila abortus*, *Leptospira* e *Neospora*.

As patologias, acima mencionadas, foram equacionadas como diagnósticos diferenciais, devido aos sinais clínicos referidos pelo proprietário da exploração em estudo, como seguidamente descritos:

- *Pestivirus* encontra-se incluída nos possíveis diagnósticos diferenciais porque apesar de causar sinais sistêmicos como febre, diarreia, erosões na mucosa oral, falência reprodutiva, também pode provocar o aborto;

-*Coxiella burnetii* afeta ruminantes no geral, surgindo sinais clínicos como: aborto, nados-mortos, vitelos débeis e repeat breeding;

- Segundo a literatura, a *Chlamydophila abortus* tem maior prevalência nos ovinos do que nos bovinos, no entanto, quando afeta a espécie bovina, esta apresenta o aborto nas últimas duas ou três semanas de gestação;

- *Leptospirose* spp em bovinos pode provocar tanto distúrbios reprodutivos (retenção placentária, e natimortos), como subfertilidade e abortos. E no caso de a gestação ser levada a termo os recém-nascidos podem apresentar alterações congénitas;

- *Neospora caninum* em bovinos pode originar sinais como absorção fetal, mumificação ou nascimento de fetos fracos e aborto.

Estes diagnósticos diferenciais foram equacionados, porque os sinais clínicos predominantes na exploração eram: o aborto no último terço da gestação. Sendo que após a realização do screening de Aborto básico, obteve-se como resultado positivo a *Coxiella burnetii*. (AnexoV)

5 Técnicas de diagnóstico

A bactéria *C.burnetii*, pode ser analisada por diferentes métodos, para a obtenção do diagnóstico direto ou indireto da Febre Q, dependendo do tipo de amostra e do propósito da investigação (Samuel & Hendrix,2009; Sidi-Boumedine et al.,2010). Existem dois tipos de métodos de diagnóstico, para a detecção da presença de bactéria no animal. Os métodos indiretos: imunofluorescência indireta (IFA), ELISA e a fixação do complemento; estes métodos indiretos permitem a pesquisa presença de anticorpos contra a bactéria, produzidos pela resposta imunitária, existindo, atualmente, em comercialização vários testes baseados nestes métodos, designados por kits rápidos (OIE,2010). Os métodos diretos: PCR, coloração bacteriana, o isolamento de estirpes e a tipificação bacteriana; o método direto pesquisa a presença da bactéria na amostra biológica.

5.1 Métodos de diagnóstico direto

É pertinente a aplicação dos métodos diretos quando se visa detetar diretamente a presença do agente na amostra biológica, para tal, é necessário aplicar pelo menos um dos seguintes testes: coloração bacteriana, PCR, isolamento de estirpes e tipificação bacteriana.

5.1.1 Coloração bacteriana

A técnica da coloração bacteriana pode ser aplicada no aparecimento de um aborto suspeito de ter origem infecciosa. Este teste é preparado em lâminas, aplicando esfregaços de cotilédone da placenta. O pulmão, fígado e conteúdo do abomaso do feto abortado ou corrimento vaginal também podem ser utilizados para a realização de esfregaços.(OIE,2010)

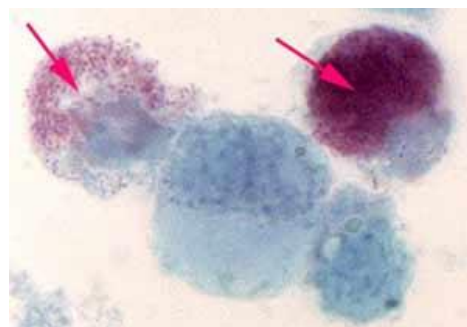


Figura 3 Esfregaço com coloração Giemenez, (Maurin,2003)

A coloração pode ser efetuada através de vários métodos, tais como: Stamp, Ziehl-Neelsen, Gimenez, Giemsa e Koster modificado (Gimenez,1964; Quinn et al, 1994; Samuel & Hendrix,2009). Após a coloração do esfregaço, observa-se através do microscópio, contendo este uma lente $\times 500$ com óleo de imersão. O método mais utilizado em Laboratórios de Veterinária é o Stamp, mas a coloração que melhor evidência as características deste microrganismo é a de Gimenez. Com a utilização desta última coloração, a bactéria *Coxiella burnetii* é caracterizada

pelo grande número de finas manchas de bactérias coco bacilares cor-de-rosa, contra um fundo azul ou verde.

5.1.2 PCR

A técnica real-time PCR, permite a quantificação da carga bacteriana e detecção de DNA da *C.burnetii* na amostra em estudo, sendo a técnica de diagnóstico direto mais utilizada para diagnóstico laboratorial em contexto de abortos ou natimortos em série. (Kim et al.,2005; Klee et al.,2006)

O PCR trata-se de uma técnica aplicável a diversos tipos de amostras, tais como, tecidos fetais (incluindo placenta), zaragoas vaginais de fêmeas abortadas, amostras de leite, fezes e carraças. A recolha de uma amostra do tanque de leite e uma análise através da técnica de PCR, é considerada uma abordagem suficientemente representativa para se concluir se numa exploração está presente a infeção e se há animais excretores da bactéria.(Blanco G.,et al,2004)

O PCR é considerado um método seguro e eficaz para detecção e diagnóstico da bactéria *Coxiella burnetii*, através da amplificação do DNA específico. Têm sido desenvolvidos vários métodos de segmentação do gene isocitrato desidrogenase, do gene superóxido dismutase e da região repetitiva “transposon-like”. O Trans-PCR tem revelado ser altamente específico e sensível para o diagnóstico laboratorial de *C.burnetii* dado que permite a detecção de uma sequência específica de DNA. Sendo aplicados os PCR Primers (Trans 1: 5'-TGGTATTCTTGCCGATGAC-3'; Trans 2: 5'-GATCGTAACTGCTTAATAAACCG-3') derivados da região repetitiva do “transposon-like” da *Coxiella burnetii*, genoma utilizado para detetar o agente, através de sequências de DNA específicas. (SuruKu KirKan et al.,2007)

A figura abaixo ilustrada, representa o resultado de uma técnica de PCR, retratando que a amplificação revelada, apresenta uma banda aproximadamente de 687bp, estando de acordo com o tamanho esperado para a identificação da *C.burnetii*. (SuruKu KirKan et al.,2007)

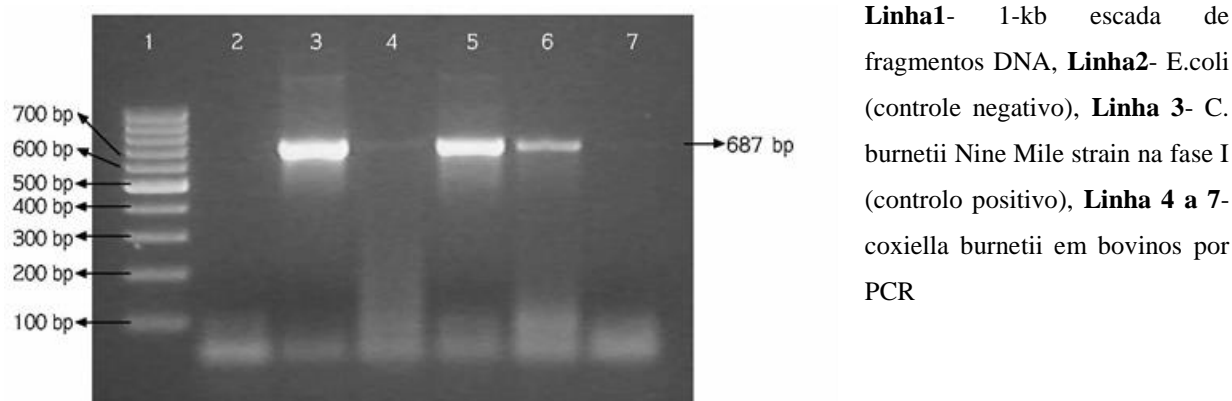


Figura 4 PCR para *C.burnetii* (amplificação específica do fragmento 687bp a partir do DNA total)

A detecção precoce de Febre Q num efetivo é essencial para aplicação de medidas. Um caso positivo num efetivo e um conjunto de sinais clínicos (aborto e/ou natimorto) é o suficiente para se fazer um despiste na exploração do agente. Se possível, devem ser recolhidas secreções vaginais no dia do parto (máximo 8 dias após o parto) para limitar o número de resultados falso-negativos por PCR. (OIE,2010)

A infecção por *C.burnetii* é confirmada pela presença do agente em amostras de feto e placenta precedentes de abortos. As amostras de placenta são essenciais para um diagnóstico em laboratório, o agente isola-se com mais facilidade a este nível, pela sua elevada carga bacteriana.(Blanco G,2004)

Os Kits de PCR, comercializados pelos laboratórios, tornaram-se práticos pela rapidez e facilidade de uso na detecção de *C.burnetii*, bem como pela sensibilidade e especificidade que estes apresentam para um leque variado de amostras. (OIE,2010)

Em 2009, Ruiz-Fons e Cols realizaram um estudo com bovinos de leite, em 7 explorações de regiões diferentes, com suspeita de infecção com Febre Q. Neste estudo, utilizaram amostras retiradas dos tanques de leite das 7 explorações, constatando que apenas 2 obtiveram resultados negativos para a presença da *Coxiella burnetii*, dado acompanhado de sero prevalência entre 10-50 %.

O PCR foi a técnica de diagnóstico utilizada na obtenção de um resultado positivo para *Coxiella burnetii* na exploração estudada durante o meu estágio, técnica efetuada pelo laboratório Exopol (Espanha), para onde foram enviadas amostras de fígado, baço, abomaso com conteúdo e pulmão do feto abortado, bem como parte da placenta.

5.1.3 Isolamento de estirpes

O isolamento de estirpes é outra das técnicas que pode ser utilizada na obtenção de diagnóstico. No entanto, o isolamento bacteriano acarreta dificuldades e riscos, dado necessitar-se de instalações de segurança microbiológica de nível 3 para proteção do técnico e meio ambiente, sendo uma técnica dispendiosa, morosa e para que o resultado seja o mais fidedigno deve ser acompanhado por técnicas moleculares. (Blanco G.,2004)

Existem três meios de cultura para a realização do isolamento de estirpes das bactérias intracelulares: cultura em meio animal (cobaia, murganho); em ovo embrionado ou em culturas celulares (Perrin e Bengtson,1942; Ormsbee, 1952; Williams et al.,1986; Raoult et al.,1990).

5.1.4 Tipificação Bacteriana

A técnica de tipificação bacteriana permite que certos anticorpos monoclonais façam a distinção isolada da bactéria ou dos estados de desenvolvimento da bactéria.

O método de genotipagem, consiste na análise da totalidade do cromossoma, utilizando enzimas de restrição e separação de fragmentos de DNA por eletroforese, em campo pulsátil, para comparação dos perfis obtidos.

Este método facilitou o estudo de variações genómicas que permitiram caracterizar isolados próximos, originados nas mesmas áreas geográficas, mas nenhum genótipo associado a uma forma aguda ou crónica da doença, nem a nenhuma espécie animal hospedeira específica. (Vodkin et al,1986; Thiele et al.,1993)

5.2 Métodos de diagnóstico Indireto

Na existência de dificuldade de interpretação de resultados através do uso dos métodos indiretos, a serologia em associação, considerado como método direto, é útil para obtenção do diagnóstico.

5.2.1 ELISA, FC e IFA

Em serologia, ELISA é a técnica de referência por parte da OIE (OIE,2010), sendo a técnica de eleição para pesquisa de infeção, pois tem maior sensibilidade na deteção da mesma e são mais facilmente padronizáveis. (Kittelberger R. 2009)

O método comercial de ELISA é o mais usado em estudos epidemiológicos, devido às suas características, este permite avaliar um grande número de animais e efetivos. (Ruiz-Fons e Cols, Garcia-Perez e Cols, 2009)

A técnica de fixação do complemento é menos sensível na deteção de infeção e os antigénios usados por vezes não detetam a presença de anticorpos em alguns animais, daí OIE ponderar sobre a interrupção da sua produção. (OIE,2010)

As reações cruzadas podem estar na origem da dificuldade de interpretação de testes serológicos, variando as interpretações de acordo com a técnica aplicada. As principais reações cruzadas podem ocorrer com as seguintes bactérias: *Legionella pneumophila*; *Legionella micdadei*; *Bartonella quintana* e *Bartonella henselae*, podendo influenciar os resultados, sobretudo nos títulos baixos de infeção.

A técnica IFA não é usualmente utilizada no diagnóstico de febre Q, sendo muito específica para cada espécie, não se adequando a rastreios de larga escala, não sendo sistemática e a sua interpretação poder ser subjetiva. (Arricau-Bouvery e Radolakis,2005).

Nenhum dos testes supracitado nos permite a identificação de animais excretores da *Coxiella burnetii* pelas fezes ou leite, uma vez que não existe relação entre a resposta serológica e a excreção. (Blanco G.,et al 2004)

6 Medidas de prevenção e controlo

Entende-se por medidas de prevenção e controlo todas as atitudes que se adote com o intuito de evitar o aparecimento e propagação de um agente patogénico.

6.1 Medidas Biossegurança

As medidas higieno sanitárias são essenciais na promoção da prevenção e controlo de disseminação patológica. Assim, como atuação preventiva, deverá ser aplicada a quarentena dos animais obtidos e a realização dos métodos de diagnóstico, PCR/ ELISA, comprovando a negatividade para *C. burnetii*.

O momento do parto de um animal infetado é o suficiente para desencadear um surto de abortos, sendo importante evitar que os partos ocorram no exterior da exploração. As condições ideais para a realização de um parto, seria a colocação das fêmeas gestantes em maternidades no pré e pós-parto, e a placenta e todos os restantes produtos decorrentes do parto deveriam ser imediatamente eliminados em locais apropriados, ou tratados com cal ou cianeto de cálcio 4% (Arricau-Bouvery, et al.,2001), impedindo assim, que o próprio ou outros animais sejam infetados. Assim como toda a palha que tenha tido contato com os líquidos provenientes do parto deverá ser destruída ou tratada. As instalações e os utensílios da sala de parto deverão ser desinfetados, assim como tudo o que esteve no interior dessas mesmas instalações (ex: comida, água, recipientes).

Todos os trabalhadores que entrem em contato com estes animais devem utilizar roupa, calçado e máscara apenas naquele local, devendo á saída providenciar a sua troca, para que, posteriormente, esse vestuário seja submetido ao calor. Todas estas medidas deverão ser aplicadas aos trabalhadores dos matadouros. (Blanco G., et al, 2004)

Para o controlo dos vetores, os animais devem ser desparasitados externamente. Os gatos e cães não devem circular pelas maternidades, pois estes estão sujeitos à contaminação e serem

uma fonte de disseminação. O estrume da maternidade, nas explorações infetadas não deve ser espalhado pelas terras, evitando assim, a dessecação e sua disseminação pelo ar, de preferência deve ser enterrado ou tratado devidamente. (Blanco G., et al, 2004)

6.2 Desinfetantes

A *C. burnetii* é altamente resistente a agentes físicos e químicos, apresenta suscetibilidade variável ao hipoclorito a 0,05%, ao formol, a desinfetantes fenólicos, ao peróxido a 5% ou apenas uma solução de Lysol® 1:100 pode ser eficaz. No entanto, também é suscetível ao gluteraldeído etanol, formaldeído gasoso, radiação gama ou a temperaturas de 130° C por 60 minutos. A pasteurização a altas temperaturas promove a destruição do organismo. (www.cfsph.iastate.edu)

6.3 Profilaxia Médica

Profilaxia médica é considerada como um método de prevenção/proteção dirigida contra um agente patogénico. (Manuila,L. et al,2000)

6.3.1 Antibióticos

A *C.burnetii* é sensível a diversos antibióticos, tais como tetraciclina, macrólidos, fluoroquinolonas e oxazolidinonas (AFSSA,2004), sendo eficaz a aplicação conjunta da vacina, uma vez que permite diminuir a excreção da bactéria e possível propagação por todo o efetivo.

Ensaio realizado in vitro mostram que antibióticos testados são bacteriostáticos, mas que apenas a associação da doxicilina com agentes com tropismo para os lisossomas, tais como a cloroquina ou amantadina, permitem obter uma atividade bactericida através da alcalinização do ambiente de *C. burnetii*, o que potencializa a ação das tetraciclina. (Maurin, et al.,1992)

Como medidas médicas disponíveis existe a vacinação, vacina com fase I, que se tem verificado ser eficaz em bovinos não infetados, como prevenção aquando da exposição destes animais à bactéria (Guatteo, et al,2008), pode ser administrada em associação como profilaxia duas injeções de oxitetraciclina (20 mg/kg/PV) durante o último mês de gestação, eventualmente no caso de pequenos ruminantes excretadores vem referenciado, na altura do parto ser administrada tetraciclina (8mg/kg/dia) na água. (Berri, et al.,2007)

No caso clínico descrito ao longo do presente trabalho, nem todas as medidas foram possíveis de aplicar, por se tratar de uma exploração antiga e pela fase económica que o setor

leiteiro atravessa, que não permite aos produtores fazerem alterações nas suas explorações. Os bovinos encontravam-se num parque exterior, em terra, durante o período de Verão, já aquando do período de vacinação (Inverno), encontravam-se no estábulo. As únicas medidas possíveis de implementar na exploração foram: a vacinação e as sessões de educação. Tentamos transmitir ao proprietário, a importância de efetuar a recolha da placenta e de todos os restos biológicos ocorridos do trabalho de parto, no entanto, o ensino ao proprietário não foi fácil pelo facto de ser uma pessoa de idade avançada e possuir ideias erróneas mas considerar as mesmas como as mais corretas.

O ideal seria também a exploração criar maternidades, para que todos os produtos biológicos resultantes do parto ou aborto possam ser fácil e prontamente recolhidos e higienizados, evitando a sua ocorrência no parque exterior com o solo em terra, propiciando a transmissão da infeção ao restante efetivo. No dia em que ocorreu o aborto e o proprietário entrou em contato com a equipa veterinária, o aborto encontrava-se na parte de fora do parque exterior tapado com um saco de papel de ração, onde permaneceu, até ser efetuada a recolha das amostras. As amostras eram constituídas por órgãos do feto já exteriorizado e por amostras de placenta que ainda se encontrava na parturiente.

6.3.2 Vacinação

Vacina é entendida como uma “*substância que possui a propriedade de imunizar o organismo contra uma doença infecciosa.*” (Manuila L., et al, 2000)

Várias vacinas foram desenvolvidas contra a Febre Q. Diversos estudos conduziram à combinação entre as medidas de controlo e a utilização da vacina com fase I.

No ano de 2012, foi permitida, pela primeira vez, a comercialização em Portugal, da Coxevac® da Ceva, com aplicação em ruminantes. Esta vacina consiste em células inteiras altamente purificadas e preparadas a partir da estirpe Nine Mile na fase I (passagem de ovo 3 ao 5), inativadas com formaldeído e sem uso de adjuvante (Arricau-Bouvery, et al.,2005).

A vacina inativa fase I é considerada a mais eficaz nos animais, no entanto, a vacinação é contraindicada para os que se encontrem em seroconversão ou que já tenham sido expostos à bactéria antes da imunização.

Alguns autores defendem que a vacina com a fase I, diminui a excreção da bactéria na placenta e leite em vacas vacinadas, no entanto, vários autores defendem que a fase I da vacina falha na prevenção da excreção no leite em vacas infetadas naturalmente antes da vacinação, sublinhando que a vacina possui apenas a capacidade de proteger os animais não infetados mas não é capaz de tratar um infetado. (Arricau-Bouvery,2005)

Estudos demonstram que vacinas fase II combinadas com antibioterapia reduzem mas não finalizam a excreção da bactéria no leite. A vacina com fase II, não comercializada em Portugal, não protege os animais contra a infeção, mas reduz a excreção de bactérias pela via vaginal, pelo leite, pelas fezes, não sendo capaz de prevenir o aborto. (Arricau-Bouvery,2005)

Estudo realizado por Guatteo em 2009, demonstra que os bovinos não-gestantes saudáveis submetidos à vacinação com Coxevac® tem cinco vezes mais probabilidade de continuar a ser não- excretor do que um animal a que tenha sido administrado placebo, como ilustrado na seguinte tabela:

Tabela IV Risco de bovinos não- gestantes e vacinadas de se tornarem excretoras num ambiente. infetado

	Hazard ratio	IC 95%	Valo P
Placebo	1	1	-----
COXEVAC®	0,21	0,05-0,90	0,036

Anatomicamente, a vacina deve ser administrada na região do pescoço, por via sc, com a dose de 4 ml/ animal, a reação adversa mais comum é a cutânea, uma reação palpável de 9 a 10 cm de diâmetro no local da administração, que pode demorar cerca de 17 dias a desaparecer.

O esquema vacinal deve ser iniciado a partir dos 3 meses de idade, designada por primovacinação, que consiste na administração de duas doses, com um intervalo de 3 semanas, e a duração da primovacinação deve estar completa cerca de três semanas antes da inseminação artificial ou cobrição, a revacinação deve ser feita todos os 9 meses, com base na duração de imunidade de 280 dias. Esta vacina tem como intervalo de segurança zero dias para o leite e a carne. Todo o efetivo deve ser vacinado em simultâneo, pelo fato de ser mais prático e por não existir qualquer risco para os animais que possam já estar infetados ou em lactação embora o ideal fosse a realização do despiste da doença e refugio dos animais infetados. (www.ema.europa.edu.pt)

Não existem dados disponíveis sobre a eficácia da utilização de Coxevac® em machos, no entanto, ensaios laboratoriais demonstraram que esta é segura, por isso caso seja decidido vacinar todo o efetivo, é aconselhável a vacinação simultânea dos machos. (www.ema.europa.edu.pt)

Não existe benefícios na vacinação quando esta é administrada em vacas infetadas e/ou gestantes, pois o significado biológico dos níveis de redução demonstrados na excreção em bovinos não é significativo. (Arricau-Bouvery,2005)

Após a obtenção do resultado por parte do laboratório Exopol, sobre as amostras previamente fornecidas da exploração em estudo, e sendo o resultado positivo para a presença de *Coxiella burnetii*, foi implementado o protocolo da Coxevac®, referido anteriormente, a todos os animais existentes na exploração. Esta medida foi aplicada, embora tenha havido consciência que esta não trata os animais já infetados, com o intuito de permitir o aumento exponencial da probabilidade de os animais não infetados continuarem a serem não-excretores, com esperança de melhorar a fertilidade e diminuir o aborto, pois o proprietário não tinha condições económicas para mandar rastrear todos os animais e refugar os animais infetados embora tenha havido consciência que esta não imuniza os animais já infetados.

7 Febre Q nos humanos

A febre Q é considerada zoonose e a transmissão da *Coxiella burnetii* ocorre pela inalação de aerossóis contaminantes derivados de secreções orgânicas do gado (reservatório primário), principalmente durante o parto, ou através da ingestão de leite não pasteurizado.

A febre Q aguda na maioria das vezes, é assintomática ou apresenta sinais semelhantes a uma gripe. Assim sendo, a forma aguda, é facilmente confundível com uma virose e, salvo existam antecedentes epidemiológicos claros ou um interesse específico do médico na doença, passa muitas vezes despercebida, auto limitando-se espontaneamente. O período de incubação varia entre 9 e 39 dias, no entanto, é mais comum entre os 9 e 21 dias. (Santos, A, et al,2007)

Em caso de aparecimento de sintomatologia, o quadro clínico instala-se abruptamente com febre alta, calafrios, sudorese, cefaleia retrobulbar intensa, fotofobia, artralguas, mialgias, letargia e fadiga. (Raoult, et al,1999) A presença de exantema cutâneo é um achado excecional. A duração da febre é variável, podendo ocorrer durante 1 a 3 semanas ou prolongar-se por mais tempo. A *C. burnetii* é uma das etiologias da síndrome febril indeterminada. A síndrome febril isolada ou com focalização hepática foi a forma de apresentação clínica mais frequente nas séries de casos de febre Q humana analisadas em Portugal.(Santos, A, et al,2007)

A pneumonia causada por *C. burnetii* apresenta-se com tosse (habitualmente seca), odinofagia e dor torácica. (Santos, A., et al,2007)

A forma crónica da doença pode instalar-se no período de um ano, mas a sua evolução pode arrastar-se, desenvolvendo-se até 20 anos depois da infeção inicial. As condicionantes deste processo ainda não estão totalmente esclarecidas, embora a febre Q crónica esteja particularmente associada a indivíduos com próteses valvulares, com valvulopatias, próteses vasculares e articulares, bem como em situações de gravidez e imunodepressão (doentes

transplantados, doentes submetidos a hemodiálise, com neoplasias e HIV). (Siciliano R.F., et al,2008)

O diagnóstico da febre Q em humanos realiza-se, normalmente, em indivíduos que se suspeite que tenham antecedentes de exposição à bactéria e apresentando sintomas similares à gripe, pneumonia, hepatite e endocardite. O diagnóstico laboratorial realiza-se mediante o isolamento e cultura celular, PCR e serologia. Das técnicas serológicas, a técnica de referência é a IFI, mas cada vez mais se usam os métodos ELISA para IgG e IgM. (Santos, A, et al,2007)

O tratamento inicial é efetuado com antibioterapia, no caso da febre Q aguda é administrado a doxiciclina 100mg em adultos ou 3 mg/kg/dia (até um máximo de 200 mg) em situações pediátricas, durante 2 a 3 semanas de 12-12h e para a febre Q crónica esta indicada a hidroxicloroquina 200mg de 8h-8h, com uma duração de tratamento de 18 meses. (Santos, A., et al,2007)

A seguinte tabela, e em termos de curiosidade, ilustra a epidemiologia da febre Q em Portugal:

Tabela V Dados Epidemiológicos de 2002 a 2008 da DGS (<http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i008987.pdf>)

REGIÕES E SUB-REGIÕES	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
<i>NORTE</i>	-	-	1	-	-	1	-
Braga	-	-	-	-	-	-	-
Bragança	-	-	1	-	-	-	-
Porto	-	-	-	-	-	-	-
Viana do Castelo	-	-	-	-	-	-	-
Vila Real	-	-	-	-	-	-	-
<i>CENTRO</i>	3	4	1	2	3	4	3
Aveiro	-	-	-	-	1	-	-
Castelo Branco	3	1	-	-	-	-	-
Coimbra	-	1	-	1	-	-	-
Guarda	-	1	-	-	-	-	-
Leiria	-	-	-	1	-	-	-
Viseu	-	1	1	-	2	-	-
<i>LISBOA E VALE DO TEJO</i>	9	5	4	4	5	3	7
Lisboa	7	5	4	1	2	-	6
Santarém	1	-	-	1	1	-	-
Setúbal	1	-	-	2	2	-	1
<i>ALENTEJO</i>	3	-	-	-	1	-	1
Beja	-	-	-	-	-	-	-
Évora	2	-	-	-	-	-	-
Portalegre	1	-	-	-	1	-	-
<i>ALGARVE / Faro</i>	-	1	-	-	1	1	1
<i>AÇORES</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>MADEIRA</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>PORTUGAL</i>	15	10	6	6	10	10	12

Após consulta de literatura Médica pude verificar que os casos de infeção humana estão subvalorizados, pois os casos confirmados pelo Instituto Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge no

período compreendido entre 2004 e 2005, foram de 32 pessoas infetadas, e entretanto os casos reportados às entidades competentes (DGS) no mesmo período temporal é de apenas 12 pessoas infetadas, isto leva a refletir se os médicos não declaram devido a processos burocráticos.

Após reflexão sobre os dados apresentados pela DGS, pude constatar que em apenas 6 anos houve 79 casos de Febre Q em humanos e, comparando com o supracitado posso depreender que possivelmente haverá um número mais alarmante de contaminação humana.

8 Conclusão

A Febre Q trata-se de uma zoonose, de distribuição mundial, que me suscita a seguinte questão: Será que esta zoonose é emergente?

Por se tratar de uma zoonose, as medidas que devem ser implementadas para a prevenção da infeção são da responsabilidade de uma equipa multidisciplinar que deve incluir clínicos, epidemiologistas e veterinários. Só através de uma estreita colaboração entre estes profissionais se podem tomar medidas que permitam controlar os casos de infeção.

Os bovinos, ovinos e caprinos são as principais fontes de contágio para o ser humano e a altura mais propícia para essa contaminação é o momento do parto ou aborto. Sendo inalação a principal via de infeção animal - homem, através dos aerossóis que veiculam a bactéria.

Como prevenção, em Portugal apenas está autorizada a comercialização de uma vacina fase I, com o intuito de proteger os animais não infetados, evitando a propagação da infeção. Na presença de animais infetados é imprescindível combinar medidas de higiene e controle médico anteriormente abordadas.

A Coxevac®, vacina fase I é eficiente na redução de casos de metrite, repeat breeding e aborto, aquando da sua administração em bovinos. Esta deve ser usada com o intuito de controlar e reduzir a contaminação ambiental, por forma a diminuir o risco de transmissão ao homem.

Pude constatar que tanto os médicos veterinários como os médicos, não se encontram sensibilizados para a patologia em questão, não fazendo esta parte dos seus diagnósticos diferenciais. Na minha opinião, deveria proceder-se a uma maior sensibilização, tanto dos médicos, como veterinários, tratadores de animais, trabalhadores de matadouros e trabalhadores de fábricas têxteis (manuseiam lã) devido ao risco de contaminação existente no seu posto de trabalho.

Os reservatórios naturais da doença em questão são inúmeros, podendo ir desde as carraças a mamíferos silvestres e domésticos, o que faz com que a disseminação da patologia seja mundialmente preocupante.

Como medidas preventivas, deveriam haver reestruturações das instalações, com a finalidade de existir maternidades que são essenciais ao bem-estar do animal e do proprietário, promovendo o controlo de aparecimento de patologias associadas ao parto e evitando a contaminação do meio, através desinfeção.

Seria interessante e positivo, no meu ponto de vista, realizar o despiste da presença da *Coxiella burnetii* nas diferentes explorações de leite, através de amostras recolhidas no tanque de leite, favorecendo a implementação imediata de medidas de prevenção evitando assim a disseminação da patologia.

Os animais oriundos de outros países deveriam ser colocados em quarentena e ser efetuado o rastreio, mesmo estando consciente que a doença possa entrar por outros meios como a palha, a ração e entre outros veículos.

O melhor método de obtenção de um diagnóstico é através da associação dos métodos PCR e ELISA, pois na amostra pode haver animais que são excretadores através do muco vaginal, fezes ou leite, e não são seropositivos, e animais que são seropositivos mas não excretam (Berri et al,2002).

Atualmente, torna-se cada vez mais difícil o controlo da disseminação da doença, pois existem variados animais dispersos pelo país, oriundos de qualquer parte do mundo e das mais variadas espécies, sendo possíveis reservatórios naturais e permanecendo no país sem qualquer rastreio efetuado pelas autoridades competentes.

Na minha opinião seria pertinente a reformulação da lista de doenças de declaração obrigatória, pois não faz sentido que a doença não seja de declaração obrigatória para os animais em Portugal e seja para os humanos, assim como não têm lógica que Portugal tenha de reportar os casos existentes a OIE, sendo que não existe uma correta recolha de dados relativamente a doença.

A vinda, de outros países, de possíveis animais infetados converte-se em um problema de saúde pública, acarretando também quebras económicas para o país e explorações.

9 Bibliografia

Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Moutoussamy, A., Ladenise, K., Rodolakis, A. (2001), “Étude de l'excrétion de *Coxiella burnetii* dans un modèle expérimental caprin et décontamination des lisiers par la cyanamide calcique – study of *Coxiella burnetii* excretion in an experimental goat model and decontamination of dung with calcium Cyanamid”. Renc.Rech. Rum, 153–156.

Arricau-Bouvery, N., Rodolakis, A., (2005). **Is Q fever an emerging or reemerging zoonosis?** Vet. Res. 36, 327–349.

Arricau-Bouvery N., Souriau A., Bodier C., Dufour P., Rousset E. & Rodolakis A. (2005) **Effect of vaccination with phase I and phase II *Coxiella burnetii***. Vaccine, 23, 4392-4402

Berri, M., Souriau, A., Crosby, M., Rodolakis, A., (2002). **Shedding of *Coxiella burnetii* in ewes in two pregnancies following an episode of *Coxiella burnetii* abortion in a sheep flock.** Vet. Microbiol. 85, 55–60.

Berri, M., Rousset, E., Champion, J.L., Russo, P., Rodolakis, A., (2007). **Goats may experience reproductive failures and shed *Coxiella burnetii* at two successive parturitions after a Q fever infection.** Res. Vet. Sci. 83, 47–52.

Blanco G.M., Aguado B.G., Sanz J.C., Nieto A.G, Gómez S.G., (2004) **Revista Profesión Veterinaria**, September, volume 15 N°59

Cox HR, Bell EJ. (1939) “**The cultivation of *Rickettsia diaporica* in tissue culture and in the tissues of developing chicken embryos**”. Public Health Rep; 54:2171-2175.

Derrick, E.H., (1937). “**Q “fever, a new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation.** Med. J. Aust. 2, 281-299

Field PR, Santiago A, Chan SW, Patel DB, Dickeson DJ, Mitchell JL, Ho DW, Murphy AM, Cuzzubbo AJ, Devine PL, (2000). **Comparison of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay with immunofluorescence and complement fixation test for detection of *Coxiella burnetii* (Q fever) immunoglobulin M.** J Clin Microbiology Apr; 38(4) : 1645-1657

García-Perez A.L., Hurtado A, Povedano I., Rubio G., Aduriz G., Atxaerandio R., Barral M., Juste R., (2005)“Estudio del ciclo doméstico y silvestre de *Coxiella burnetii* en la CAPV. Plan piloto de control de fiebre Q”. Neiker

García-Pérez Ana L.; *NEIKER* Ianire Astobiza (2013) “La fiebre Q, una zoonosis de actualidad” Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario
(<http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/11812/ARTICULOS-RUMIANTES/La-fiebre-Q-una-zoonosis-de-actualidad.html>) visitado 12:18,19/02/2013

Gauchard F.,Hattemberger A.,(2004), “Fièvre Rapport sur l evaluation des risqué pour la santé publique et des outils digestion desrisques en élevage de ruminants,Agence Française de securite des aliments” (<http://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics/054000042/0000.pdf>) visitado 10:00 , 11/01/13

Guatteo R., Beaudeau F., Berri M., Rodolakis A., Joly A., Seegers H., (2006).”Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implication for detection and control”, *Veterinary Research* 37, 827-833

Guatteo, R., Seegers, H., Joly, A., Beaudeau, F.(2008). **Prevention of *Coxiella burnetii* shedding in infected dairy herds using a phase I *C. burnetii* inactivated vaccine.** *Vaccine* 26,4320–4328.

Guatteo, R., Beaudeau, F., Joly, A., Seegers, H., (2007). “***Coxiella burnetii* shedding by dairy cows**”. *Vet. Res.* 38, 849–860.

Kittelberger R, Mars J,Wibberley G, Sting R, Henning K, Horner GW, Garnett KM, Hannah MJ, Jenner JA, Pigott CJ, O'Keefe JS, (2009), **Comparison of the Q-fever complement fixation test and two commercial enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of serum antibodies against *Coxiella burnetii*(Q-fever) in ruminants: Recommendations for use of serological tests on imported animals in New Zealand**, *New Zealand Veterinary Journal* 57(5), 262-268

Kim S.G., Kim E.H., Lafferty C.J. & Dubovi E. (2005). “*Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples”, United States.*Emerg. Infect. Dis.*, **11**, 619–621.

Klee S.R., Tyczka J., Ellerbrok H., Franz T., Linke S., Baljer G. & Appel B. (2006). **Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii***. *BMC Microbiology.*, **6**, pág 2.

OIE ,2010, Terrestrial Manual 2010, chapter 2.1.12- Q fever, Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2010

Manuila L., Manuila A., Lewalle P., Nicoulin M.,(2000), **Dicionário Médico**, Climepsi Editores, 1ª edição, pag.490,552,624

Perrin T.K., Bengtson I.A.(1942), “The histopathology of experimental Q fever in mice.Public health reports” 57:790-4.

Philip CB. (1948) **Comments on the name of the Q fever organism**. Public Health Rep; 63:58-59.

Porter S.R, Czaplicki G., Mainil J., Horii Y., Misawa N., Saegerman C., (2010)“Q fever in Japan”: Na update review, Elsevier

Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A. (2004) “**Microbiologia**”, 5ª Ed, McGRAW-Hill.interamericana pág.528-529; pág 987-989)

Raoult D, Houpiqian P, Tissot Dupont H, Riss JM, Arditi-Djiane J, Brouqui P.(1999) “**Treatment of Q fever endocarditis: comparison of 2 regimens containing doxycycline and ofloxacin or hydroxychloroquine**”. Arch Intern Med.25;159:167-73.

Robert J.Bildelf, Gary W.Thomson, Deborah M. Haines, Beverly J. McEwen, Nonie Smart(2000), **Coxiella burnetii infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion**, Journal Veterinary Diagnoses Investigation

Sánchez A. J.,(2009), “Q fever importance in Europe nowadays”

Santos, A.,Bacellar, F.,França A., (2007) Febre Q: Revisão de conceitos Medicina Interna, artigo de revisão volume 14, nº2

Seshadri R., Paulsen I.T., Eisen J.A, Read T.D., Nelson W.C., Ward N.L., Tettelin H., Davidsen T.M., Beanan M.J., Deboy R.T., Daugherty S.C., Brinkac L.M., Madupu R., Dodson R.J., Khouri H.M., Lee K.H., Carty H.A., Scanlan D., Heinzen R.A., Thompson H.A., Samuel J.E.,Fraser C.M., Heidelberg J.F.,(2003). **Complete genome sequence the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. Proceeding of National Academy of sciences of the United States of America**, 100(9): 5455-5460.

Seshadri R.,Hendrix L.,Samuel J.,(1999) “Diferencial Expression of Translational Elements by Life Cycle Variants of *Coxiella*”

Siciliano R.F, Ribeiro H.B, Remo Furtado R.H, Castell J.B., Sampaio R.O, Colombo F.S, Max Grinberg M. , Strabelli M., (2008) “**Endocardite por *Coxiella burnetii* (febre Q).Doença rara ou pouco diagnosticada? Relato de caso**”, Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 41(4):409-412, jul-ago

Sükrü KirKan, Osman Kaya, Serten Tekbiyik, Ugur Parin,(2008), Departamento f Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine,Adnan University,09016 Isikli, Aydin-Turkey, **Detection of *Coxiella burnetii* in Cattle by PCR**,Turk.J.Vet.Anim.Sci, 32(3):215-219

Thiele D.,Willems H., Kopf G., Krauss H.,(1993) **Polymorphism in DNA restriction patterns of *Coxiella burnetii* isolates investigated by pulsed field gel electrophoresis and image analysis**. European Journal of Epidemiology 9(4) : 419-425

To, H., Htwe, K.K., Kako, N., Kim, H.J., Yamaguchi, T., Fukushi, H., Hirai, K.,(1998.) **Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in dairy cattle with reproductive disorders**. J. Vet. Med. Sci. 60, 859–861.

Vaidya, V.M., Malik, S.V., Bhilegaonkar, K.N., Rathore, R.S., Kaur, S., Barbuddhe, S.B.,(2008). **Prevalence of Q fever in domestic animals with reproductive disorders.** Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 33 (4), 307–321.

Vodkin M.H.,Williams J.C.,Stephenson C.H.,(1986). **Genetic Heterogenity among isolates of Coxiella burnetii.** *Journal of Genera Microbiology.* 132(2) : 455-463

Cites consultados:

www.cfsph.iastate.edu, Visitado 22:08, 12/11/12

<http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i008987.pdf>, visitado 23:30, 19/12/12

ANEXO I

Bovinos		Número de consultas	
Cirurgias			
Castração			2
Colocação trocânter			1
DAE			9
Remoção tetos supranumerários			4
Ap. Respiratório		Número de consultas	
Pneumonia			10
Ap. Digestivo		Número de consultas	
Torção cecal			2
Úlcera abomaso			3
Indigestão			2
Enterite vitelos			17
BVD			1
Ap. Reprodutivo		Número de Consultas	
Torção Uterina			1
Reprodução			35
Doenças metabólicas		Número de Consultas	
Hipocalcémia			6
Cetose			2
Outras		Número de Consultas	
Vacinação			120
Desparasitação			20
Ap ms-esquelético		Número de Consultas	
Lesões ms			1
Peito e pata inchada			4
Úlcera sola			1
Cabras	Nºconsultas	Ovelhas	Nºconsultas
Clostridioses	3	Sint.Nervosa	2
Desparasitar	7	Cetose	3
Feridas	1	Desparasitar	4
Mamite	1		
Total	12		9
Suínos		Nº consultas	
Castração		2	
Corte de dentes + ferro		3	
Diarreia		1	
Salmonelose		1	
Indigestão		2	
Sint Nervosa(meningite)		1	
Hipocalcémia		2	

ANEXO II



ANEXO III

Especie	Seroprevalencia explotaciones		Seroprevalencia individual	
	Nº	NºPos(%)	Nº	NºPos(%)
vacuno leche	193	93 (48,2)	2.692	176 (6,5)
Vacuno carne	42	18(42,9)	618	41(6,6)
Ovino	46	34(73,9)	1.298	160 (12,3)
Caprino	11	5(45,5)	109	9 (8,3)

Seroprevalencia de la Fiebre Q en las especies de rumiantes domésticos en el País Vasco

ANEXO V

Análise realizada a 17 de Outubro 2012:

REAL TIME PCR		
ENFERMEDADES.....	MUESTRAS.....	RESULTADOS
Campylobacter fetus venerealis.....	Placenta+C.Estômago+Hígado.....	Neg.
Coxiella burnetii.....		Positivo
Leptospira patógenas.....		Neg.
Neospora caninum.....		Neg.
BVD, Diarrea vírica bovina.....	Pulmão+Bazo.....	Neg.

Campylobacter fetus venerealis: deteção de *C. fetus venerealis* mediante la PCR en tiempo real.
Leptospira: deteção de Leptospiras patógenas mediante PCR Real Time específico para gen codificante de la proteína de membrana externa lip132
Coxiella: deteção de *C. burnetii* genoma amplificación mediante PCR en tiempo Real.
BVD: deteção del virus de la Diarrea Viral Bovina tipos mediante PCR en tiempo Real.
Neospora caninum: deteção de Neospora caninum mediante la PCR en tiempo real